

Литература

1. Банин В.В., Алимов Г.А. – Эндотелий как метаболически активная ткань (синтетические и регуляторные функции). // Морфология (Архив анатомии. Гистологии и эмбриологии).- 1992.- Т.102, вып. 2.- С.10 – 35.
2. Родионов Ю.Я., Науменко А.А., Яхновец А.А. – Сердце как энерго-информационный организатор кровотока в системе макрогемодинамики и микроциркуляции. Кардиальный уровень интеграции животного организма. // Девятый съезд Белорусского общества физиологов (Минск, 5 – 6 сентября 1996 г.). Тез. докл, Минск.- 1996, С. 87 – 88
3. Rodionov Yu. Ya., Shebeko V. I., Naumenko A.A., Yakhnovetz A.A.- The heart as an energy-informational organizer of blood flow. The cardiac integration level. // XXXIII International Congress of Physiological Sciences. Abstracts. - St.Petersburg. - 1997. - P.60.19.
4. Шебеко В.И. – Эндотелий и система комплемента // Витебск: ВГМУ, 1999.- 149 стр.
5. Gimbrone M.A., Jr., Nagel T., Topper J.N. - Biomechanical activation: an emerging paradigm in endothelial adhesion biology. // J. Clin. Invest.- 1997.- V.99, №8, P.1809-1813.
6. Garcia-Cardena G., Comander J., Anderson K.R., Blackman B.R., Gimbrone M.A., Jr. - Biomechanical activation of vascular endothelium as a determinant of its functional phenotype. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA.- 2001.- V.98.- №8.- P.4478-4485.
7. Squire J.M., Chew M., Nneji G., Neal C., Barry J., Michel C. - Quasi-periodic substructure in microvessel endothelial glycocalyx: a possible explanation for molecular filtering? // Journ. of Structural Biology.- 2001.-V.136.- Is.3.- P.239 – 255.
8. Urbich C., Fritzenwanger M., Zeiher A.M., Dimmeler S. - Laminar shear stress upregulates the complement-inhibitory protein clusterin: a novel potent defense mechanism against complement-induced endothelial cell activation // Circulation. - 2000. – 101(4), P.352 – 355.

ПОСТРАДИАЦИОННАЯ МОДИФИКАЦИЯ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ МЕХАНИЗМОВ РЕГУЛЯЦИИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ АОРТЫ В МОЛОДОМ И СТАРОМ ВОЗРАСТАХ

Соловьева Н.Г.

***Белорусский государственный педагогический университет
им. М. Танка, г. Минск***

The aim of this work is to study post-radiation modification of regulatory influence of endothelium on functional activity of aorta in the young and old ages.

The study has been performed on 420 albino rat – males in young (1-3 months) and old (20-24 months) ages .

The experimental animals have been underwent to the acute (dose 9.10 –4 Gr/s) and prolong (dose 2,3.10-7 Gr/s) radiation on the apparatus IGUR and GAMMARID – 192/120 respectively with the source of gamma - radiation Cs 137 up to the total dose 1Gr. The experiment has been conducted on the 10th, 30th and 90th days after radiation. In both groups (experimental and control) the animals were of one and the same age.

The isolated ring segment of aorta - the object of study. The study has been conducted on preparations with intact endothelium and on deendotheliated ones in order to determine the role of endothelium in the forming of post – radiation changes of aorta functional activity .

Post-radiation modification of aorta functional activity in the young and old ages has been characterized by phased and different-direction changes. The differences in directions and degree of manifestation of radiation – induced DE is determined.:

1. The power of dose gamma-radiation – influence of gamma-radiation with the power dose 9.10-4 Gr/s leads to the strengthening of inhibition influence of endothelium in future and inhibition in the later period of post – radiation period. The radiation with the power of dose 2,3.10-7 Gr/s evokes more significant and stable changes of aorta tone which characterized by inhibition of vasodilatatory properties of endothelium within all post-radiation period.

2. The initial functional state of vascular system of experimental animals being on the different stages of ontogenesis – in young age the maximum radiation effect manifests as a rule in early period after the radiation, in the contrast in the old age manifests in the late period – in more expressed degree. This is due by the high radio – sensitive and the lack of antioxidant and reparative reserves of the old organism.

The marked difference of post – radiation effects justifies about the complex character of gamma – radiation in the dose 1Gr influence on the organism in the young and old ages and high sensitivity of endothelial mechanisms of regulatory functional activity of aorta to the radiation factor.

Сердечно-сосудистые заболевания, частота возникновения которых тесно коррелирует с возрастом, в настоящее время являются основной причиной сокращения продолжительности жизни. Данная ситуация характерна и для Республики Беларусь. Рост патологий сердечно-сосудистой системы объясняется влиянием различных неблагоприятных факторов, среди которых немаловажное значение принадлежит и радиационному [1].

Эффекты ионизирующего излучения в высоких дозах характеризуются ярко выраженными, стойкими морфофизиологическими изменениями сосудистой стенки, тогда как вопрос о действии малых доз облучения окончательно не решен. Первоначально пострadiaционные изменения, индуцируемые малыми дозами, имеют функциональную направленность, носят преимущественно неспецифический характер, сопровождаются возникновением нейроциркуляторных и вегетососудистых дистоний как гипо-, так и гипертензивного типа. Данные пострadiaционные эффекты сопряжены с нарушением механизмов нейрогуморальной регуляции сосудистого тонуса и в первую очередь с дисфункцией эндотелия (ДЭ), являющегося по морфологическому критерию наиболее радиочувствительным элементом сосудистой стенки. Дисбаланс в синтезе/высвобождении эндотелиальных вазоконстрикторных и вазодилаторных веществ в дальнейшем на фоне воздействия различных стресс-агентов может служить предпосылкой развития сердечно-сосудистой патологии в форме ишемической болезни сердца, инфаркта миокарда, гипертензии и др. Многочисленные научные данные относительно причинно-следственных взаимосвязей в развитии пострadiaционных сосудистых нарушений получены преимущественно на особях зрелого возраста. Возрастной же аспект радиационно-индуцированных изменений эндотелиальных механизмов регуляции сосудистого тонуса, их выраженности и временной динамики изучен не достаточно полно.

Цель настоящей работы заключалась в исследовании пострadiaционной модификации регуляторных влияний эндотелия на функциональную активность аорты в молодом и старом возрастах.

Материалы и методы исследований

Исследования выполнены на 420 беспородных белых крысах-самках молодого (1-3 мес) и старого (20-24 мес) возрастов, выращенных в виварии Института радиобиологии НАН Беларуси. Экспериментальные животные подвергались острому (мощность дозы $9 \cdot 10^{-4}$ Гр/с) и пролонгированному (мощность дозы $2,3 \cdot 10^{-7}$ Гр/с) облучению на установках ИГУР и ГАММАРИД-¹⁹²/₁₂₀, соответственно, с источником γ -излучения Cs¹³⁷ до общей поглощенной дозы 1 Гр. Облученных животных в опыт брали на 10-е, 30-е и 90-е сутки пострadiaционного периода. В качестве контроля использовали одновозрастных животных.

Объектом исследования являлись изолированные кольцевые сегменты грудной аорты. Для определения роли эндотелия в формировании пострadiaционных нарушений функциональной активности аорты, исследования проводили на препаратах с интактным эндотелием и дезэндотелизованных. При приготовлении сосудистых препаратов использовали классический метод, предложенный R.F. Furchgott и J.V.

Zawadzki (1980). Для изучения пострadiaционной модификации нейрогуморальной регуляции аорты осуществляли стимуляцию α -адренергических рецепторов неселективным агонистом норадреналином (НА, $5 \cdot 10^{-10}$ – $5 \cdot 10^{-7}$ моль/л) и селективным агонистом α_1 -адренорецепторов фенилэфрином (ФЭ, $1 \cdot 10^{-9}$ – $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л), серотонинергических – серотонином (5-НТ, $1 \cdot 10^{-9}$ – $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л). Регистрировали и рассчитывали: силу изометрического сокращения сегментов аорты при действии вазоконстрикторов в мг; степень ингибирующего влияния эндотелия на величину сокращения как разницу силы сократительных реакций дезэндотелизованных и интактных препаратов, выраженную в процентах от силы сокращения сегментов без эндотелия. Статистическую обработку полученных экспериментальных данных проводили при помощи программы Microsoft Excel, с использованием t-критерия Стьюдента для определения степени достоверности различий.

Результаты и их обсуждение

Воздействие γ -излучения в остром режиме с мощностью дозы $9 \cdot 10^{-4}$ Гр/с приводило к усилению сократительных реакций аорты молодых и старых крыс, опосредованных стимуляцией α_1 -адренергических рецепторов. Вместе с тем динамика пострadiaционных изменений реактивности аорты при действии адреноагонистов определялась возрастом облученных животных: у молодых особей они проявлялись на 10-е и 30-е сутки после облучения, у старых – на 30-е и 90-е сутки.

Изменения вазодилаторных свойств эндотелия после острого облучения не зависимо от возраста имели фазный характер: усиливались в начальные сроки пострadiaционного периода и угнетались в поздние. Так, на 10-е сутки после острого облучения у молодых крыс было отмечено усиление ингибирующего влияния эндотелия на сокращения гладкомышечных клеток (ГМК) аорты при стимуляции α -адренергических рецепторов на 16%, $p < 0,05$ (рис. 1). Это и определило отсутствие различий в сократительных реакциях интактных сегментов аорты на фоне усиления сокращения дезэндотелизованных при действии НА. Таким образом, у молодых животных в ранние сроки после острого облучения в первую очередь модифицируются эндотелий-зависимые механизмы адренергической регуляции тонуса аорты. Это подтверждается и результатами, полученными при действии селективного агониста α_1 -адренорецепторов ФЭ: не выявлено пострadiaционных изменений в чувствительности и плотности α_1 -адренорецепторов на ГМК аорты.



Рис. 1. Динамика ингибирующего влияния эндотелия на сократительные реакции аорты молодых (А) и старых (Б) крыс после острого (1) и пролонгированного (2) облучения в дозе 1 Гр при стимуляции адренорецепторов норадреналином ($5 \cdot 10^{-7}$ моль/л).

Сходное усиление ингибирующего влияния эндотелия отмечено на 10-е сутки после острого облучения у молодых животных и при действии 5-НТ. При этом наибольший вклад вносил рецептор-стимулируемый синтез/высвобождение NO, опосредованный активацией эндотелиальных 5-НТ₁-серотонинергических рецепторов, чем базальный – 55% и 18%, соответственно, $p < 0,05$. Усиление NO-зависимых регуляторных механизмов сосудистого тонуса, активация NO-синтаз и накопление избытка NO в тканях животных, подвергнутых облучению, отмечены и другими исследователями [2]. Данная реакция, по-видимому, носит приспособительный характер. Возможные механизмы усиления вазодилаторных свойств эндотелия заключаются в активации индуцибельной NO-синтазы цитокинами и свободными радикалами и/или активации конститутивной NO-синтазы внутриклеточным кальцием [3], уровень которого значительно возрастает после радиационного воздействия [4]. Последнее осуществляется за счет снижения Ca^{2+} -связывающей способности наружных белков плазматических мембран, изменений в Ca^{2+} -транспортирующих системах саркоплазматического ретикулума, митохондрий и $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обмене [4]. Кроме того, на начальном этапе образования радиационно-индуцированных радикалов включаются защитные механизмы, регулирующие уровень активных форм кислорода, например, активация супероксиддисмутазы и других ферментов, контролирующих уровень NO – «гипоксический» механизм защиты [2].

По мере увеличения пострadiaционного периода эндотелий-зависимые дилататорные влияния на сокращения ГМК аорты при стимуляции α -адренергических рецепторов, напротив, значительно снижались: на 21% на 30-е сутки после острого облучения у молодых крыс и на 18% на 90-е сутки у старых (см. рис. 1). При этом именно ДЭ определяла усиление реактивности аорты старых крыс в поздние сроки пострadiaционного периода, тогда как у молодых крыс исследуемые функциональные параметры к 90-м суткам практически восстанавливались. Доказательством служит снижение ингибирующего влияния эндотелия на фоне отсутствия изменений в силе сокращения дезэндотелизованных препаратов облученных и необлученных старых крыс при стимуляции α_1 -адренергических рецепторов. Вазодилататорных влияний эндотелия было не достаточно и для предотвращения усиления индуцированной 5-НТ гиперконстрикции: показатель ингибирующего влияния эндотелия был снижен на 23% на 30-е сутки после острого облучения у молодых животных и на 31% на 90-е сутки у старых ($1 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $p < 0,05$).

Выявленная у молодых и старых крыс в поздние сроки после острого облучения ДЭ, заключающаяся в угнетении релаксирующих влияний эндотелия, является, по-видимому, результатом либо постепенного истощения NO-резервов, либо негативного действия высоких концентраций NO, отмеченных в ранние сроки. В частности, цитотаксические и цитогенетические эффекты NO обусловлены его взаимодействием с супероксиданионом и образованием пероксинитрита. Последний инициирует разрывы цепочек и окисление оснований ДНК, нитрирование гуанина и белков, окисление липидов биологических мембран и т.д. Все это приводит, в первую очередь, к инактивации NO, усилению окислительных процессов, дополнительному росту свободных радикалов и, во вторую, – к повреждению сосудистых клеток и мутагенезу.

Возможно также, что немаловажную роль в формировании пострadiaционной ДЭ выполняет и индуцибельная NO-синтаза, активность которой проявляется после воздействия различных стресс-факторов и значительно более длительное время, чем конститутивной. Рост экспрессии индуцибельной NO-синтазы, приводящий к избыточному накоплению NO как в эндотелиальных клетках, так и ГМК, может способствовать развитию негативных последствий длительной генерации NO. Кроме того, индуцибельная NO-синтаза выступает в качестве ингибитора конститутивной NO-синтазы [5].

В отличие от эффектов острого облучения, пролонгированное вызывало значительное усиление сокращения аорты молодых крыс при стимуляции α -адренергических и серотонинергических рецепторов уже на 10-е сутки постлучевого периода. Высокий уровень сократительной активности сохранялся и в последующие сроки, хотя и в меньшей степени.

Однако полного восстановления исследуемых параметров функциональной активности аорты молодых крыс не происходило даже в более поздние сроки (на 90-е сутки). Ингибирующее влияние эндотелия угнеталось, причем данный параметр был снижен на протяжении всего постлучевого периода (см. рис. 1).

У старых животных пролонгированное облучение приводило к разнонаправленным изменениям адренергической и серотонинергической регуляций аорты: снижению сокращения при действии α -адреноагонистов и усилению – при действии 5-НТ. Пострадиационные изменения реактивности аорты при стимуляции α_1 -адренорецепторов у старых крыс, в первую очередь, связаны с глубокими структурно-функциональными перестройками этих рецепторов, в частности, с существенным снижением их плотности: R_{\max} на деэндотелизованных сегментах аорты на 10-е и 30-е сутки были ниже таковых в контроле на 23% и 14%, соответственно, $p < 0,05$. Эндотелий не принимал участия в ослаблении сократительных реакций аорты при действии адреноагонистов, так как показатель ингибирующего влияния был снижен на 23% на 10-е сутки и на 19% на 30-е сутки, $p < 0,05$ (см. рис. 1).

Гиперконстрикция аорты старых крыс при действии 5-НТ после пролонгированного облучения определяется, напротив, значительным ростом плотности 5-НТ₂-серотонинергических рецепторов и их сродства к агонисту, а также угнетением эндотелиальных вазодилаторных влияний: показатель ингибирующего влияния эндотелия был снижен на 45% на 10-е сутки и на 11% на 30-е сутки после радиационного воздействия, $p < 0,05$. Последнее может быть результатом негативного влияния 5-НТ не только за счет потенцирования накопления внутриклеточного кальция в ГМК через потенциал- и 5-НТ₂-рецептор-зависимые кальциевые каналы, но и синтеза/высвобождения эндотелиальных констрикторных факторов [6].

Таким образом, пострадиационная модификация функциональной активности аорты в молодом и старом возрастах характеризуется фазными и разнонаправленными изменениями. Различия в направленности и степени проявления радиационно-индуцированной ДЭ определяются:

- Во-первых, мощностью дозы γ -излучения – воздействие γ -излучения с мощностью дозы $9 \cdot 10^{-4}$ Гр/с приводит к усилению ингибирующего влияния эндотелия в ближайшие и угнетению в поздние сроки пострадиационного периода. Облучение с мощностью дозы $2,3 \cdot 10^{-7}$ Гр/с вызывает более значительные и стойкие изменения тонуса аорты, который характеризуется угнетением вазодилаторных свойств эндотелия на протяжении всего пострадиационного периода.

- Во-вторых, исходным функциональным состоянием сосудистой системы облучаемого организма, находящегося на разных этапах онтогенеза – в молодом возрасте максимальный радиационный эффект проявляется, как правило, в ранние сроки после облучения, в старом,

напротив, в поздние и в более выраженной степени. Последнее обусловлено высокой радиочувствительностью и недостаточностью антиоксидантных и репаративных резервов старого организма.

Отмеченное разнообразие постлучевых эффектов свидетельствует о сложном характере воздействия γ -излучения в дозе 1 Гр на организм в молодом и старом возрасте и высокой чувствительности эндотелиальных механизмов регуляции функциональной активности аорты к радиационному фактору.

Автор выражает благодарность профессору, члену-корреспонденту НАН Беларуси Л.М. Лобанку за помощь в обсуждении полученных результатов.

Исследования выполнены в Институте радиобиологии НАН Беларуси при частичной поддержке Фонда фундаментальных исследований по теме «Механизм эндотелий-зависимой регуляции функций сосудов: влияние старения и ионизирующей радиации. Разработка методов повышения механизмов гомеостатической устойчивости системы кровообращения».

Литература

1. Океанов А.Е., Антипова С.И., Ломать Л.Н. и др. Некоторые итоги наблюдения за состоянием здоровья населения Республики Беларусь // Фундамент. и приклад. аспекты радиобиологии. Биол. эффекты малых доз и радиоакт. загряз. среды (Радиозкол. и мед.-биол. последствия катастрофы на ЧАЭС): Тез. докл. междунар. науч. конф., Минск, 16–17 апр. 1998 г. – Минск, 1998. – С. 185.
2. Voevodskaya N.V., Vanin A.F. Gamma irradiation potentiation L-arginin dependent NO formation in mice // Bioch. Bioph. Communic. – 1992. – V. 186 (3). – P. 1423–1428.
3. Ignarro L.J. Endothelium-derived nitric oxide: actions and properties // J. FASEB. – 1989. – V. 3. – P. 31–36.
4. Дворецкий А.И., Айрапетян С.Н., Шаинская А.М., Чеботарев Е.Е. Трансмембранный перенос ионов при действии ионизирующей радиации на организм. – Киев: Наукова думка, 1990. – 136 с.
5. Persoons J.H.A., Schomagel K., Breve J. e.a. Acute stress affected cytokines and nitric oxide production by alveolar macrophages differently // Amer. J. Resp. Crit. Card. Med. – 1995. – V. 153. – P. 619–624.
6. Auch-Schwelk W., Vanhoutte P.M. Endothelium-derived contracting factor released by serotonin in the aorta of the spontaneously hypertensive rat // Am. J. Hypertens. – 1991. – V. 4 (9). – P. 769–772.